

# Emergencia y sobrevivencia de gramíneas inoculadas con biofertilizantes en condiciones de invernadero

## Emergence and survival of grasses inoculated with biofertilizers in a greenhouse study

Mario Humberto Esqueda Coronado<sup>a</sup>, Regina Leticia Carrillo Romo<sup>a</sup>, Manuel Sosa Cerecedo<sup>b</sup>,  
Alicia Melgoza Castillo<sup>a</sup>, Mario Humberto Royo Márquez<sup>a</sup>, Jorge Jiménez Castro<sup>b</sup>

### RESUMEN

En condiciones de invernadero, se evaluó el efecto de la inoculación de microorganismos en la emergencia y sobrevivencia de las gramíneas: navajita (*Bouteloua gracilis* (HBK) Lag. Ex Steud), banderilla (*Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr.), gigante (*Leptochloa dubia* (Kunth) Nees), llorón (*Eragrostis curvula* (Schrud.) Nees), garrapata (*Eragrostis superba* Peyr) y klein (*Panicum coloratum* L.) en tres tipos de suelo. Los tratamientos fueron: *Azospirillum brasilense*, *Glomus fasciculatum*, la mezcla de ambos y el testigo. Los suelos colectados se depositaron en macetas, en donde se sembraron 20 semillas viables, con seis repeticiones por tratamiento. El agua se aplicó con base en una secuencia de humedad-sequía tomada de la precipitación obtenida en 35 años durante los meses de julio y agosto, con 10 mm de lluvia. Los datos se sometieron a un análisis de varianza en un modelo lineal con datos categóricos, en el que se realizaron análisis individuales para cada una de las especies. Los biofertilizantes mostraron efectos significativos ( $P < 0.05$ ) en especies y tipos de suelo. El mayor efecto se observó con el *A. brasilense*, ya que incrementó los porcentajes de emergencia hasta un 50 %, mientras que la supervivencia se incrementó desde un 100 hasta un 400 %. Las especies que tuvieron una mayor respuesta fueron banderilla, llorón y garrapata. Se concluye que los biofertilizantes favorecen la emergencia y sobrevivencia de las diferentes gramíneas en estas condiciones.

**PALABRAS CLAVE:** *Azospirillum brasilense*, *Glomus fasciculatum*, Gramíneas, Emergencia, Sobrevivencia, Tipos de suelo, Humedad-sequía.

### ABSTRACT

An evaluation was made of emergence and survival of six grasses with biofertilization in three different soil types, under greenhouse conditions. The grasses were: blue grama (*Bouteloua gracilis* (HBK) Lag. Ex Steud); sideoats grama (*Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr.); green sprangletop (*Leptochloa dubia* (Kunth) Nees); weeping lovegrass (*Eragrostis curvula* (Schrud.) Nees); Wilman lovegrass (*Eragrostis superba* Peyr); and kleingrass (*Panicum coloratum* L.). Inoculation treatments included: *Azospirillum brasilense*; *Glomus fasciculatum*; a mix of both; and a control. Each pot was planted with 20 grass seeds and six replicates were used per each treatment combination (biofertilizer + soil). The plants were watered under a most common wet-dry sequence observed in a 35-year period of precipitation data in July and August. Data was analyzed with an ANOVA under a linear model using categorical data, by species. Results showed differences ( $P < 0.05$ ) by species and soil type. Best results were obtained with sideoats grama, weeping lovegrass and Wilman lovegrass. In general, *A. brasilense* treatment increased emergence by 50 % and survival from 100 to 400 %. The biofertilizers improved grass species emergence and survival grasses.

**KEY WORDS:** *Azospirillum*, Mycorrhiza, Grasses, Plant survival, Plant emergence, Soil types.

### INTRODUCCIÓN

La resiembra de pastizales es una práctica importante para la recuperación de pastizales

### INTRODUCTION

Grasslands restoration is an important practice in recovery of deteriorated grasslands. However, it

Recibido el 31 de enero de 2003 y aceptado para su publicación el 29 de junio de 2004.

<sup>a</sup> C.E. La Campana (INIFAP) Av. Homero 3744. Fracc. El Vergel. Chihuahua, Chih. .Tel 01 614 4 810257 y 01 614 4810769. marioes@att.net.mx. Correspondencia al primer autor.

<sup>b</sup> Facultad de Zootecnia. Universidad Autónoma de Chihuahua.

deteriorados. Sin embargo, además de su alto costo, la insuficiente humedad, altas temperaturas, altas tasas de evaporación, vientos y herbivoría, así como lento crecimiento durante el estado de plántula contribuyen a que esta práctica sea incierta<sup>(1)</sup>.

Debido a esto, es necesario buscar alternativas para incrementar las probabilidades de éxito en el establecimiento de plántulas. Dentro de los requisitos indispensables para un buen establecimiento están: la rápida germinación y el rápido crecimiento de la raíz y parte aérea<sup>(2,3)</sup>. Otra alternativa es mediante la inoculación de la semilla con bacterias y hongos, que se caracterizan por promover el crecimiento rápido de raíz y parte aérea<sup>(4)</sup>. Dentro de las bacterias, se encuentra el *Azospirillum brasilense*, que además de fijar el N-atmosférico produce sustancias reguladoras del crecimiento vegetal<sup>(5)</sup>; estimula la tasa de aparición de pelos radiculares, aumentando la superficie específica de las raíces, lo cual le permite absorber más agua y minerales, afectando la tasa de respiración y actividades enzimáticas específicas<sup>(6,7)</sup>. En trigo, el *A. brasilense*, estimula el desarrollo de la planta al aportar nitrógeno, aún en suelos pobres, y por producir ácido indol-acético, que es un promotor del crecimiento en las plantas, además de que no es peligroso para el medio ambiente o para la salud de las plantas<sup>(8)</sup>.

Además de las bacterias, existen los hongos micorrízicos, como el *Glomus fasciculatum*, que forman asociaciones simbióticas con las raíces de las gramíneas. Estos aumentan la capacidad de captura de recursos y agua y solubilizan los fosfatos del suelo haciéndolos disponibles para las plantas<sup>(9)</sup>. En esta asociación simbiótica, los hongos colonizan el tejido de la raíz, en donde la planta produce carbono para la alimentación de los hongos y éstos le proporcionan agua y minerales a la planta<sup>(4)</sup>. La mayoría de las especies de plantas de zonas áridas y semiáridas<sup>(10)</sup> presentan endomicorrizas (VAM), las cuales incrementan la solubilización y absorción de fósforo y otros elementos por las plantas. También, facilitan el desarrollo de la raíz hacia zonas más alejadas, con lo que se incrementa el consumo y transporte de agua y la resistencia de las plantas al estrés de humedad y a condiciones

is an expensive and risky practice due to insufficient humidity, high temperatures, high evaporation rates, winds, herbivory, and slow growth during the seedling stage<sup>(1)</sup>.

As a result, alternatives need to be found to increase the probability of seedling establishment success. Rapid germination and rapid growth from the root and aerial portions are indispensable requirements for good establishment<sup>(2,3)</sup>. Inoculation of seed with bacteria and fungi promotes rapid growth from the root and aerial portions<sup>(4)</sup>. One of the bacteria used in seed inoculation is *Azospirillum brasilense*, which fixes atmospheric nitrogen and produces vegetal growth regulation substances<sup>(5)</sup>. Inoculation with *A. brasilense* stimulates the rate of radicle appearance, increasing root surface area, allowing roots to absorb more water and minerals, and thus affecting respiration rate and specific enzymatic activities<sup>(6,7)</sup>. In wheat, *A. brasilense* stimulates plant development, even in poor soils, by contributing nitrogen and producing indol-acetic acid, a plant growth promoter that is not dangerous to the environment or plant health<sup>(8)</sup>.

In addition to bacteria, there are mycorrhizic fungi, such as *Glomus fasciculatum*, that form symbiotic associations with grass roots. These increase the roots' resource and water capture capacity and solubilize soil phosphates, making them available to plants<sup>(9)</sup>. In this symbiotic relationship the fungi colonize root tissue, where the plant produces carbon to feed them, and these in turn provide water and minerals to the plant<sup>(4)</sup>. Most arid and semiarid plant species<sup>(10)</sup> have endomycorrhizae (VAM), which increase solubilization and absorption of phosphorous and other elements important to plants. They also facilitate root development toward more distant areas, increasing water consumption and transport and, consequently, plant resistance to humidity stress and adverse environmental conditions<sup>(11,12,13,14)</sup>. For example, wheat inoculated with *G. fasciculatum* increased its peduncle length and flag leaf area, as well as the number and weight of its grains<sup>(15)</sup>. Recently, the use of VAM has focused on its use as a tool

medioambientales adversas<sup>(11,12,13,14)</sup>. El trigo inoculado con *G. fasciculatum* incrementó el largo del pedúnculo y área foliar de la hoja bandera, así como el número de granos y peso de los mismos<sup>(15)</sup>. Más recientemente el uso de VAM se ha enfocado como herramienta en la restauración de suelo, que une fuertemente la estructura del suelo de manera física y química<sup>(16)</sup>.

De esta manera, los microorganismos representan una opción para mejorar el medioambiente de las raíces y el aporte nutricional a las plantas, con lo que podrían incrementar las probabilidades de sobrevivencia y establecimiento de pastos en zonas áridas. Sin embargo, los beneficios no pueden generalizarse a todas las especies de plantas, ya que los hongos VAM presentan especificidad, infectividad y efectividad<sup>(4)</sup>, además de que su respuesta es afectada también por las características agroclimáticas del sitio<sup>(17)</sup>.

Por lo expuesto se llevó a cabo este estudio con el fin de evaluar la respuesta de biofertilizantes *Azospirillum brasilense* y *Glomus fasciculatum* sobre la emergencia y sobrevivencia de gramíneas.

El trabajo se llevó a cabo en condiciones de invernadero, tratando de simular las condiciones de campo de la parte central del estado de Chihuahua, donde los resultados tendrán aplicabilidad. Se seleccionaron tres sitios de colecta de suelo, y la elección de aplicación de los riegos fue con base en una secuencia humedad-sequía común en la área. El experimento se realizó en el invernadero de la Fac. de Zootecnia de la UACH y tuvo una duración de 60 días, de septiembre a noviembre del 2000.

Los tres sitios, Ejido Ocampo, Ejido El Charco y Aldama, de colecta de suelo corresponden a áreas de cultivo abandonadas de la región central del Estado. La caracterización de estos suelos se presenta en el Cuadro 1.

Las gramíneas evaluadas fueron tres especies nativas y tres introducidas. Las especies nativas fueron: navajita (*Bouteloua gracilis* (HBK) Lag. Ex Steud), banderilla (*Bouteloua curtipendula*

in soil restoration as it serves as a strong physical and chemical bond in soil structure<sup>(16)</sup>.

Microorganisms thus represent an option for improving root environment and plant nutritional inputs, which may increase grass survival and establishment probability in arid zones. These benefits, however, cannot be generalized to all plant species since VAM fungi exhibit specificity, infectivity and effectivity<sup>(4)</sup>, and their response is affected by site agroclimatic conditions<sup>(17)</sup>. The present study evaluated the response of the biofertilizers *Azospirillum brasilense* and *Glomus fasciculatum* on emergence and survival in six graminea species.

The study was done under greenhouse conditions in order to simulate common field conditions in the central portion of the state of Chihuahua, Mexico, where the results would be applicable. Three soil collection sites were chosen and the wet-dry regime common to the area was used to determine the irrigation sequence. The 60-day long experiment was done between September and November, 2000 in the greenhouse of the Facultad de Zootecnia, Universidad Autonoma de Chihuahua.

The three soil collection sites, Ejido Ocampo, Ejido El Charco and Aldama, are all abandoned agricultural cultivation areas in central Chihuahua. Their soil characterizations are shown in Table 1.

A total of six grass species were evaluated: three natives and three introduced. The three native species are desirable in grasslands communities in central Chihuahua: blue grama (*Bouteloua gracilis* (HBK) Lag. Ex Steud); sideoats grama (*Bouteloua curtipendula* (Michx.)Torr.); and green sprangletop (*Leptochloa dubia* (Kunth) Nees). The three introduced species have been used in restoring arid and semiarid zones in this region: weeping lovegrass (*Eragrostis curvula* (Schrad.) Nees); Wilman lovegrass (*Eragrostis superba* Peyr); and kleingrass (*Panicum coloratum* L.). Four treatments were applied to all six grass species: *Azospirillum brasilense*, *Glomus fasciculatum*, a mixture of both and a control.

(Michx.)Torr.) y gigante (*Leptochloa dubia* (Kunth) Nees), que son deseables en las comunidades de pastizal de la zona central del Estado. Las especies introducidas fueron: llorón (*Eragrostis curvula* (Schrad.) Nees), garrapata (*Eragrostis superba* Peyr) y klein (*Panicum coloratum* L.), zacates que se han utilizado en resiembras en zonas áridas y semiáridas del Estado. A las semillas se les aplicaron cuatro tratamientos: el *Azospirillum brasilense*, *Glomus fasciculatum*, la mezcla de ambos y el testigo.

Los inoculantes utilizados para las seis gramíneas fueron productos comerciales. La presentación del inóculo de *A. brasilense* es pastosa con turba como acarreador y *G. fasciculatum* en forma líquida. El primero se aplicó utilizando 400 g del producto comercial en 50 g de semilla, que corresponde a  $1 \times 10^8$  bacterias por gramo. Para ello, se hizo una mezcla de agua con el inóculo y se aplicó en forma homogénea para toda la semilla. En la micorriza se utilizó un litro de producto por hectárea, que corresponde a 10,000 hongos por gramo. Para la inoculación de la semilla se aplicó la parte proporcional del producto y se asperjó la cantidad de semilla suficiente para cubrir 100 m<sup>2</sup>. En ambos casos, las semillas se secaron a la sombra y posteriormente por análisis visual y pruebas de germinación previas, se contaron semillas viables para ajustar la densidad de siembra al tamaño de la maceta<sup>(18)</sup>.

Se colocaron 4.5 kg de cada uno de los suelos colectados en macetas de 15 cm de diámetro y 20 cm de profundidad. El arreglo fue de seis macetas para cada especie de gramínea en cada uno de los diferentes suelos y para cada tratamiento de inoculación. En cada maceta se sembraron 20 semillas viables.

El riego aplicado a las macetas fue de 10 mm de agua con la siguiente secuencia de días con y sin riego: 1-2, 1-1, 1-1, 1-1, 2-4, 2-12, esta última secuencia, de 12 días de sequía, se extendió hasta 42 días para evaluar el efecto de los tratamientos sobre la mortalidad de plantas, simulando una sequía dentro de la época de lluvias, lo cual es muy común en zonas áridas y semiáridas, por lo

Cuadro 1. Descripción de los tipos de suelo evaluados en el estudio

Table 1. Description of evaluated soil types

Characteristic	Soil types by location		
	Ejido Ocampo	El Charco	Aldama
Organic matter, %	0.7	1.76	0.5
PH	6.7	7.4	7.8
CaCO <sub>3</sub> , %	0.0	2.0	1.5
Nitrates, kg/ha	40	88	85
Electrical conductivity	1.0	0.7	1.3
Hydraulic conductivity	5.9	3.6	6.5
Phosphorous, ppm	11.1	25.6	8.0
Potassium, ppm	800	1127	1184
Calcium, ppm	2200	7300	5675
Magnesium, ppm	228	212	287
Sodium, ppm	187	110	316
Iron, ppm	9.8	3.1	1.96
Copper, ppm	0.57	0.54	0.46
Magnesium, ppm	5.1	22.0	4.6
Zinc, ppm	1.3	2.2	1.3
Clay	15.7	7.7	9.7
Mud	38.8	43.8	37.8
Texture	Loamy-sand	Granular clay-sand	Granular sand

The inoculants were commercial products, *A. brasilense* in a paste presentation (peat is used as a vehicle), and *G. fasciculatum* in a liquid presentation. The first was applied using 400 g of commercial product on 50 g of seed, which is equal to  $1 \times 10^8$  bacteria per gram. This was done by mixing the inoculant in water and applying it homogeneously over the seed. One liter of the commercial mycorrhiza product was used per hectare, which is equal to 10,000 fungi per gram. The seed was inoculated with the proportional part of the product by spraying it on the amount of seed needed to cover 100 m<sup>2</sup>. In both cases, the seed was dried in the shade and then, after visual analysis and germination tests, the amount of viable seeds was counted to adjust sowing density to pot size<sup>(18)</sup>.

A total of 4.5 kg of each one of the collected soils was placed in pots (15 cm diameter x 20 cm deep). Each grass species was planted in six pots with

tanto la secuencia humedad-sequía abarcó un total de 8 días de riego y 52 sin riego.

Las variables evaluadas fueron emergencia y sobrevivencia de plantas; para ello se contó diariamente el número de plantas emergidas de cada especie en cada tratamiento, hasta obtener el máximo número de plantas emergidas. De manera similar, se determinó diariamente la sobrevivencia de las plantas hasta estimar el mínimo número de plantas sobrevivientes a los 60 días. Los datos obtenidos en cada uno de los tratamientos se presentaron en forma de proporciones de un total de 120 semillas por tratamiento. Adicionalmente se tomó diariamente la información sobre temperatura ambiente, así como las máximas y mínimas (Figura 1).

Debido a que la información obtenida para las variables de emergencia y sobrevivencia es de tipo bivariado y en proporciones, para su análisis se utilizó un modelo lineal con datos categóricos (CATMOD). El análisis de varianza fue para cada una de las especies en cada uno de los tres tipos de suelo con los cuatro tratamientos<sup>(19)</sup>. De este modo, se estimó el efecto individual de cada uno de los cuatro tratamientos de inoculación sobre cada una de las seis diferentes especies en cada tipo de suelo. La comparación de medias se realizó mediante una prueba para proporciones en distribuciones normales. Posterior al análisis, los datos fueron transformados a porcentajes<sup>(20)</sup>.

#### *Zacate navajita*

Para esta especie la cantidad de agua aplicada, no fue suficiente para lograr una adecuada emergencia<sup>(21)</sup> (7.7 % promedio en el testigo y valores máximos de 30 % con biofertilizantes), ya que el zacate navajita requiere de 2 a 4 días de humedad constante en el suelo para que la semilla germine e inicie el crecimiento de las raíces adventicias<sup>(22)</sup>. Lo mínimo necesario que debería esperarse de emergencia para una especie en una resiembra, debe ser por arriba de un 30 %; en condiciones naturales se ha reportado que la emergencia del banco de semilla en suelo fluctúa alrededor del 30 %<sup>(23,24)</sup>.

one of the soils for each inoculation treatment. Twenty viable seeds were sown in each pot.

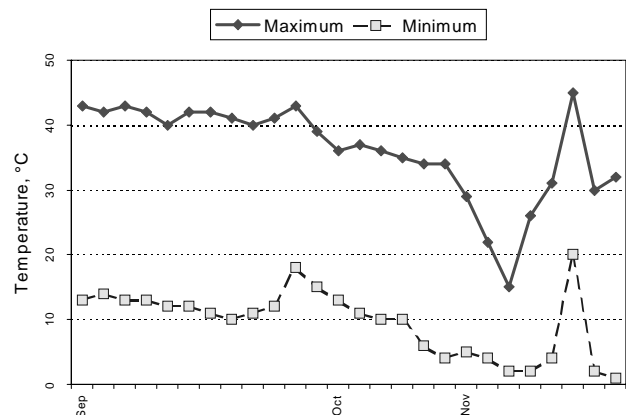
The pots were irrigated with 10 mm of water according to the following sequence of days (wet-dry): 1-2; 1-1; 1-1; 1-1; 2-4; and 2-12. The dry portion of the final sequence (2-12) was extended to 42 d to evaluate the effect of the treatment on mortality and simulate a drought period within the rainy season, which is quite common in arid and semi-arid zones. Overall, the wet-dry sequence included 8 d of irrigation and 52 d without it.

Variables evaluated were emergence and survival. Emerged plants were counted daily until a maximum number of emerged plants was reached. Survival was also determined daily by counting until reaching the minimum number of surviving plants at d 60. Data from each treatment was shown as a proportion of a total of 120 seeds per treatment. Ambient, maximum and minimum temperature data were also recorded daily (Figure 1).

Analysis was done with a linear model and categorical data (CATMOD) since emergence and survival data were bivariable and proportional variables. Variance analysis was done for each species in each treatment and soil combination<sup>(19)</sup>.

Figura 1. Temperaturas máximas y mínimas registradas en el invernadero (septiembre a noviembre)

Figure 1. Maximum and minimum temperature in the greenhouse (September to November)



En esta gramínea se observó un efecto del *A. brasilense* sobre la emergencia de plantas en los tres tipos de suelo con respecto al testigo. Comparado con los otros dos tipos de suelo, el suelo franco-arenoso fue el más adecuado para la emergencia de las plántulas (Cuadro 2), ( $P < 0.05$ ), debido a que este suelo tiene una mayor capacidad de retención de agua, lo cual favorece la emergencia<sup>(25)</sup>, además de que no se encontraron carbonatos, los cuales, pueden afectar negativamente la sobrevivencia de la bacteria en el suelo<sup>(26)</sup>. La mayor respuesta obtenida con *A. brasilense* probablemente se debe a que esta bacteria propicia un ambiente benéfico para el desarrollo de la planta, al incrementar la proliferación de vellosidades de la raíz, con lo que aumenta su consumo de nutrientes<sup>(4,27)</sup>, además, produce auxinas, citocininas y giberelinas<sup>(28)</sup>.

Con la micorriza sólo el suelo franco-arenoso mostró diferencia en emergencia con respecto al testigo, debido a que suelos con alta capacidad de retención de agua tienden a tener menores requerimientos de agua para emergencia de gramíneas<sup>(25)</sup>. En suelos con características similares se ha encontrado que la inoculación del navajita con micorrizas incrementó la longitud de hoja<sup>(29)</sup> y el número de brotes en un 30 %<sup>(30)</sup>. Además, se ha reportado en este zacate que la infección con micorrizas aumenta el transporte de agua en un 50 %<sup>(31)</sup>, la concentración de clorofila en 28 %, la concentración de fósforo en 89 % y el consumo de CO<sub>2</sub> en un 68 %, lo cual es indicativo de una mayor tasa fotosintética<sup>(32)</sup>. En el suelo migajón-arcillo-arenoso sólo el tratamiento que se inoculó con *A. brasilense* resultó superior ( $P < 0.05$ ) a los demás tratamientos, mientras que en el suelo areno-migajonoso se apreció que la inoculación con *A. brasilense* (solo y en mezcla con micorriza) incrementó la emergencia. Sin embargo, estos resultados no se consideran concluyentes, probablemente debido a que esta respuesta es afectada por el tipo de suelo<sup>(33)</sup> y estrés de humedad de manera combinada<sup>(34)</sup>.

La sobrevivencia de plántulas no fue afectada ( $P > 0.05$ ) por la inoculación, ni por el tipo de suelo (Cuadro 2). En otro trabajo similar no se encontró efecto de la micorrización sobre la sobrevivencia

In this way, the individual effect of each inoculation treatment was estimated for each of the six species in each soil type. Means comparison was done using a test for normally distributed proportions. After analysis, the data were transformed into percentages<sup>(20)</sup>.

#### *Blue grama*

The amount of water applied was insufficient for this species to properly emerge<sup>(21)</sup> (7.7 % average in control; 30 % maximum value with biofertilizers) since blue grama requires from 2 to 4 d of constant soil humidity for seed germination and initial growth of adventitious roots<sup>(22)</sup>. Minimum anticipated emergence for a species in a restoration should be greater than 30 %, in fact, emergence of the soil seed bank in natural conditions is reported to fluctuate around 30 %<sup>(23,24)</sup>.

The *A. brasilense* treatment affected plant emergence in the three soil types versus the control. Among the soils, the loamy-sand had the highest emergence values ( $P < 0.05$ ) and thus was the most adequate for plant emergence (Table 2). This soil has greater moisture retention capacity, favoring emergence<sup>(25)</sup>, and also has no carbonates (Table 1), which can negatively affect bacteria survival in the soil<sup>(26)</sup>. The better response was with *A. brasilense*, probably because this bacteria provides a beneficial environment for the plant, increasing the quantity of root hairs and consequently nutrient intake<sup>(4,27)</sup>, as well as producing auxines, cytokinins and gibberellins<sup>(28)</sup>.

Only the loamy-sand soil exhibited any difference with the *G. fasciculatum* treatment of this grass species versus the control. Again, this is because its high moisture retention required less water for grass emergence<sup>(25)</sup>. Inoculation of blue grama with mycorrhizas in soils with similar characteristics has produced increases in leaf length<sup>(29)</sup> and number of sprouts by 30 %<sup>(30)</sup>. Reports on this grass species also show that mycorrhiza infection increases water transport by 50 %<sup>(31)</sup>, chlorophyll concentration by 28 %, phosphorous concentration by 89 % and CO<sub>2</sub> intake by 68 %, which is indicative of a higher photosynthesis rate<sup>(32)</sup>. In the granular-clay-sand soil, only the *A. brasilense*

Cuadro 2. Porcentaje de emergencia y sobrevivencia en zacates nativos en un período de sequía de 42 días con diferentes tratamientos de inoculación a la semilla y según el tipo de suelo (%)

Table 2. Emergence and survival percentage in native grasses over a 42-day dry period with different seed inoculation treatments, according to soil type (%)

Inoculation Treatment	Emergence				Survival			
	Loamy-sand	Granular sandy clay	Granular sand	Average	Loamy-sand	Granular sandy clay	Granular sand	Average
Blue grama								
Azospirillum	31 Aa	15 Ab	8 ABb	18	89	72	70	77 A
Mycorrhiza	31 Aa	7 Bb	7 BCb	15	51	50	87	63 A
Mixture	34 Aa	5 Bb	13 Ab	17.3	58	83	19	53.5 A
Control	18 Ba	3 Bb	2 Cb	7.7	37	75	50	47.5 A
Mean	28.5	7.5	7.5	14.5	59.1 a	57.6 a	56.5 a	60.3
Sideoats grama								
Azospirillum	55 ABa	67 Aa	66 Aa	62.7	83	60	63	68.9 C
Mycorrhiza	43 Bb	67 Aa	70 Aa	60	69	38	67	58 B
Mixture	57 Aab	45 Bb	60 Aa	54	75	48	67	63.3 BC
Control	46 ABa	38 Bab	33 Bb	39	51	26	55	44 A
Mean	50.3	54.3	57.3	53.9	69.6 b	43 a	62.9 b	58.6
Green sprangletop								
Azospirillum	54 Aa	60 Aa	63 Aa	59	54	60	67	60.1 AB
Mycorrhiza	57 Aa	53 ABa	48 Ba	52.7	37	73	86	65.3 B
Mixture	53 Aa	58 ABa	58 ABa	56.3	50	59	84	64.3 B
Control	52 Aa	46 Ba	29 Cb	42.3	43	60	49	50.7 A
Mean	54	54.3	49.5	52.6	46 a	63 b	71.5 c	80.1

ABC Capital letters in the same column indicate differences among biofertilizers ( $P < 0.05$ ).

abc Lower case letters in the same row indicate differences among soil types ( $P < 0.05$ ).

de plántulas de navajita, lo cual se atribuyó a que la disponibilidad de agua no fue suficiente para el desarrollo de una micorrización que genere cambios al menos en las primeras 10 semanas de vida<sup>(29,34)</sup>. Sin embargo, en este experimento particular, la emergencia fue tan baja, que los efectos de los biofertilizantes se vieron enmascarados por carecer de repeticiones necesarias, de tal manera que si una plántula se moría, la sobrevivencia disminuía hasta en un 50 % (alta variación de los datos), lo que le resta potencia a la prueba y no puede detectar cambios entre los tratamientos.

#### *Zacate banderilla*

En el suelo franco arenoso, la emergencia no respondió a los tratamientos de inoculación, ya que

treatment performed better ( $P < 0.05$ ) than the others, while in the granular-sandy soil *A. brasilense* inoculation (alone and mixed with mycorrhiza) increased emergence. These results cannot be considered conclusive, however, as response experiences a combined effect from soil type<sup>(33)</sup> and moisture stress<sup>(34)</sup>.

Plantlet survival was not affected ( $P > 0.05$ ) by inoculation or soil type (Table 2). In a similar study no effect from mycorrhization was reported on blue grama seedling survival, which is attributed to water availability being insufficient for development of a mycorrhization that generates changes in at least the first 10 wk of life<sup>(29,34)</sup>. However, in this specific emergence study was so

su respuesta fue similar al testigo ( $P > 0.05$ ). La emergencia en los otros dos tipos de suelo fue superior en los tratamientos con biofertilizantes ( $P < 0.05$ ).

Los tipos de suelo no mostraron diferencia ( $P > 0.05$ ) en la emergencia de plántulas al utilizarse el inóculo con *A. brasilense*. Con respecto a la micorriza, la emergencia fue menor en el suelo franco-arenoso, mientras que con el uso de la mezcla sólo se encontraron diferencias ( $P < 0.05$ ) entre los tipos de suelo areno-migajonoso y migajón-arcillo-arenoso con valores de 46 y 33 %, respectivamente (Cuadro 2).

La emergencia de este zacate fue muy alta, sin embargo presentó un alto porcentaje de mortalidad, lo que lógicamente disminuyó la sobrevivencia. Esta mayor mortalidad se puede deber a que esta especie presenta susceptibilidad provocada por los períodos secos mayores de 3 días<sup>(35)</sup>. Lo anterior, es de suma importancia, ya que esta planta con estrés de humedad presenta problemas de mortalidad en sus primeras etapas de desarrollo, lo cual puede ser debido a que la proporción raíz/ parte aérea tiende a decrecer en un 50 % después de las primeras 48 h de emergencia, provocando una mayor transpiración y un mayor esfuerzo de la raíz para sostener esa parte aérea<sup>(35,36)</sup>.

Los biofertilizantes no tuvieron efecto en el suelo franco-arenoso probablemente debido a que el banderilla se adapta bien a suelos arcillosos y limosos<sup>(37)</sup> y los biofertilizantes no actuaron de manera sinérgica como lo hacen en ambientes marginales<sup>(38)</sup>. Los biofertilizantes lograron tener emergencias superiores al testigo en los suelos migajón-arcillo-arenoso y areno-migajonoso, ya que esta especie se adapta regularmente a suelos arenosos<sup>(37)</sup> y los microorganismos pudieron mostrar su efecto positivo<sup>(38,39,40)</sup>.

La inoculación con biofertilizantes favoreció la sobrevivencia de plántulas con respecto al testigo ( $P < 0.05$ ), en donde se observó que los tratamientos con *A. brasilense* y mezcla fueron los que mostraron mayor sobrevivencia con valores de 68.9 y 63.3 %, respectivamente. En el suelo

low that the biofertilizer effects were lost due to insufficient replicates such that if one seedling died survival decreased by up to 50 % (high data variation). This reduces the power of the test and does not allow changes to be detected between treatments.

#### *Sideoats grama*

Emergence in the loamy-sand soil did not respond to the inoculation treatments, with values similar to the control ( $P > 0.05$ ). In the two other soil types emergence was higher in the biofertilizer treatments ( $P < 0.05$ ).

No difference ( $P > 0.05$ ) was observed in emergence between soil types with the *A. brasilense* treatment. Emergence with the mycorrhiza was less in the loamy-sand soil, while with the biofertilizer mixture differences were only observed between the granular-sandy (46 %) and granular-clay-sand (33 %) soils (Table 2).

Emergence was very high for this grass species, though the percentage of mortality was also high, reducing survival. The fact that this species becomes susceptible after dry periods longer than 3 d<sup>(35)</sup> may have lead to this higher mortality, which is extremely important since under moisture stress this grass experiences mortality problems in its initial development stages. This may result from the fact that the root/aerial portion ratio tends to decrease by 50 % 48 h after emergence, leading to greater respiration and higher root effort to sustain the aerial portion<sup>(35,36)</sup>.

The biofertilizers had no effect in the loamy-sand soil, probably because sideoats grama adapts well to clayey and silty soils<sup>(37)</sup> and because the biofertilizers did not act synergically, as they do in marginal environments<sup>(38)</sup>. The biofertilizers did produce higher emergence in the granular-clay-sand and granular-sandy soils as this grass adapts only moderately well to sandy soils<sup>(37)</sup>, allowing the microorganisms to manifest their positive effects<sup>(38,39,40)</sup>.

This results from the mycorrhizic symbiosis is common in semiarid ecosystems with summer

migajón-arcillo-arenoso se encontró la menor sobrevivencia de plántulas ( $P < 0.05$ ) con respecto a los otros dos tipos de suelo (Cuadro 2).

Esta respuesta se debe a que la simbiosis micorrízica es común en ecosistemas semiáridos con zacates de crecimiento de verano ( $C_4$ )<sup>(39)</sup>. En condiciones de invernadero el banderilla presentó hasta 63 veces más biomasa, una mayor ramificación de la raíz y una baja mortalidad de plantas cuando se inoculó con micorriza, lo cual influyó directamente la habilidad de la planta para competir por nutrientes e incrementar las tasas de crecimiento<sup>(41,42)</sup>. Además de que la inoculación con el hongo propicia una mayor disponibilidad de fósforo para la planta y un incremento de la actividad fotosintética<sup>(30)</sup>, especialmente aquéllas que viven en hábitas marginales<sup>(38)</sup>, y este beneficio de la micorriza generalmente es durante etapas de alta mortalidad, tal como sucede en la etapa de plántula<sup>(43)</sup>.

La inoculación con biofertilizantes favoreció la sobrevivencia de plántulas con respecto al testigo ( $P < 0.05$ ); se observó que los tratamientos con *A. brasilense* y mezcla fueron los que mostraron mayor sobrevivencia (68.9 y 63.3 %, respectivamente). En el suelo migajón-arcillo-arenoso se encontró la menor sobrevivencia de plántulas ( $P < 0.05$ ) con respecto a los otros dos tipos de suelo (Cuadro 2).

En el suelo migajón-arcillo-arenoso se presentó la menor sobrevivencia de plántulas, debido posiblemente a que este suelo es el que presenta el mayor contenido de carbonatos lo que afecta a la bacteria<sup>(26)</sup>, o bien que el banderilla se adapta regularmente a suelos arenosos como este tipo de suelo y mejor a suelos arcillosos y limosos<sup>(37)</sup>.

#### *Zacate gigante*

Los porcentajes de emergencia en el suelo franco-arenoso fueron similares ( $P > 0.05$ ), lo cual se puede deber a que el gigante en esta etapa fenológica no es sensible a los beneficios de los biofertilizantes (Cuadro 2), y también a que los microorganismos no responden de manera similar a los diferentes tipos de suelo, y son afectados por

growth ( $C_4$ ) grasses<sup>(39)</sup>. Under greenhouse conditions the sideoats grama had 63 times more biomass, greater root ramification and low plant mortality when inoculated with mycorrhiza. This directly influenced plant ability to compete for nutrients and increase growth rates<sup>(41,42)</sup>. Inoculation with this fungus also favors greater phosphorous availability for the plant and increases photosynthetic activity<sup>(30)</sup>, especially in marginal habitats<sup>(38)</sup>. This benefit generally occurs during high mortality stages such as the seedling stage<sup>(43)</sup>.

Biofertilizer inoculation favored seedling survival versus the control treatment ( $P < 0.05$ ), with the highest survival values in the *A. brasilense* (68.9 %) and mixture (63.3 %) treatments. The granular-clay-sand soil had the lowest seedling survival ( $P < 0.05$ ) versus the other two soil types (Table 2).

The granular-clay-sand soil had the lowest seedling survival, possibly because this soil has the highest carbonate content, which affects bacteria<sup>(26)</sup>, or because sideoats grama adapts only moderately well to sandy soils like this one and much better to clayey or silty soils<sup>(37)</sup>.

#### *Green sprangletop*

Emergence percentages for this grass in the loamy-sand soil were similar ( $P > 0.05$ ). This is likely due to the fact that in this phenological stage green sprangletop is not sensitive to the benefits of biofertilizers (Table 2). Also, the microorganisms do not respond in the same way to different soil types and are affected by soil structure, texture, organic matter content, pH, use history and nutrient and water condition<sup>(17)</sup>, as well as the different interactions between soil and plant type<sup>(44,45)</sup>.

In the granular-clay-sand soil, only the *A. brasilense* treatment had higher values (60 %) vs the control (46 %). The mycorrhiza treatment had a value of 58 % and the mixed treatment one of 53 %, but they were similar to the control. In the granular-sandy soil, the biofertilizer treatments had significantly different ( $P < 0.05$ ) emergence percentages (*A. brasilense*, 63 %; mixture, 58 %; mycorrhiza, 48 %) than the control treatment (29 %). The inoculation treatments showed no differences

la estructura, textura, contenido de materia orgánica, pH, historial de uso de agua y nutrientes<sup>(17)</sup>, así como por las diferentes interacciones entre tipo de suelo y de planta<sup>(44,45)</sup>. Para el suelo migajón-arcillo-arenoso sólo el tratamiento con *A. brasilense* fue superior al testigo con valores de 60 y 46 %, respectivamente. La mezcla y la micorriza presentaron valores de 58 y 53 %, respectivamente, pero fueron similares al testigo. En el suelo areno-migajonoso los biofertilizantes fueron diferentes ( $P < 0.05$ ) al testigo que tuvo un 29% de emergencia, siendo los mayores porcentajes de emergencia para el *A. brasilense* con 63 % y la mezcla con 58 %, seguidos de la micorriza con 48 %. Los tratamientos de inoculación no mostraron diferencia ( $P > 0.05$ ) entre tipos de suelo, pero si se observó diferencia en el testigo, en donde el suelo areno-migajonoso fue el de menor emergencia. En trabajos de campo en el sur de Texas se reportó una mayor emergencia en suelos franco-arenosos (27 %), comparado con suelos areno-limosos (1 %) y arcillo-limosos (0 %)<sup>(46)</sup>.

La mayor sobrevivencia correspondió a la micorriza y a la mezcla con valores de 65.3 y 64.3 %, respectivamente, mientras que en el testigo fue de 50.7 %, el cual no mostró diferencia ( $P > 0.05$ ) con el *A. brasilense*. Este aspecto se considera de suma importancia, ya que la micorriza logró reducir la mortalidad en este zacate, que al igual que el banderilla, se caracterizan por presentar una alta proporción de hojas en relación con la raíz<sup>(35,47)</sup>, aspecto que los hace susceptibles a mortalidad por estrés de humedad.

La sobrevivencia mostró diferencia ( $P < 0.05$ ) entre los tres tipos de suelo, donde el valor más alto se obtuvo en el suelo areno-migajonoso con un 71.5 %. (Cuadro 2). especialmente en los tratamientos que incluyeron micorriza, la cual fue de 86 y 84 %, respectivamente para micorriza y mezcla. Esta mayor sobrevivencia se atribuye a que la respuesta a la micorrización por lo general es mayor en suelos con bajo contenido de fósforo<sup>(48)</sup>, 50 ppm o menos<sup>(49)</sup> como lo fue el caso de este tipo de suelo. Además, esta respuesta se incrementa en los suelos con bajos contenidos de nutrientes, especialmente

( $P > 0.05$ ) between soil types, but did show differences with the control, where the granular-sandy soil had the lowest emergence. Field studies in southern Texas, USA, report higher emergence in loamy-sands soils (27 %), in comparison to sandy-silt (1 %) and clay-silt (0 %) soils<sup>(46)</sup>.

The highest survival percentages for the green sprangletop grass were observed with the mycorrhiza (65.3 %) and mixture (64.3 %) treatments, while the control (50.7 %) and *A. brasilense* treatments were not different ( $P > 0.05$ ). This is extremely important because the mycorrhiza reduced mortality in this grass species, which, like sideoats grama, is characterized by a high leaf:root ratio<sup>(35,47)</sup>, making them susceptible to mortality from moisture stress.

Survival for green sprangletop was significantly different ( $P < 0.05$ ) between the three soil types, with the highest value in the granular-sandy soil (71.5 %)(Table 2), which increased even more with the mycorrhiza (86 %) and mixture treatments (84 %). This higher survival is attributed to the generally greater response to mycorrhization in soils with low phosphorous content<sup>(48)</sup> (50 ppm or less<sup>(49)</sup>), like this soil type. This response also increases in soils with low nutrient contents, especially those from desert zones like the granular-sandy<sup>(50)</sup>. Survival was further increased because this grass species grows well in sandy soils<sup>(45,51)</sup>.

#### *Kleingrass*

The *A. brasilense* treatment with this grass produced higher values in all the soil types versus the control ( $P < 0.05$ ), likely because of the acceleration in plant growth caused by its production of nitrogen and release of phytohormones<sup>(28)</sup>. Of the three soil types, the loamy-sand had the highest emergence values, which were similar between the three biofertilizer treatments (Table 3), with values around 50 %. In contrast, the control had only 34 % ( $P < 0.05$ ). In the field this species exhibits greater emergence in loamy-sand soil (63 %) in comparison to sandy-mud (23 %) and saline clay-sandy soils (14 %)<sup>(46)</sup>. The other two soil types with the *A. brasilense* treatment had the highest response ( $P < 0.05$ ) with 45 % emergence for both.

aquéllos encontrados en la zona desértica como lo es el suelo areno-migajonoso<sup>(50)</sup>, su sobrevivencia fue alta debido a que crece bien en suelos arenosos<sup>(45,51)</sup>.

#### *Zacate klein*

El *A. brasilense* mostró valores más altos de emergencia en todos los suelos con respecto al testigo ( $P < 0.05$ ), probablemente por su producción de nitrógeno y liberación de fitohormonas que aceleraron el crecimiento de la planta<sup>(28)</sup>. En el suelo franco-arenoso se presentaron los valores más altos de emergencia y fueron similares en los tres tratamientos de inoculación (Cuadro 3), con valores alrededor del 50 %, mientras que el testigo sólo llegó al 34 % ( $P < 0.05$ ). Esta especie en campo muestra una mayor emergencia en un suelo franco-arenoso (63 %), comparado con el suelo areno-limoso (23 %) y arcillo-limoso salino (14 %)<sup>(46)</sup>. Para los otros dos tipos de suelo el tratamiento con *A. brasilense* presentó la mayor respuesta ( $P < 0.05$ ) con un 45 % de emergencia en ambos casos.

El tratamiento con *A. brasilense* fue el único que no mostró diferencia entre tipos de suelo ( $P < 0.05$ ). Se logró una buena emergencia en el suelo franco-arenoso, a pesar de que esta especie prefiere los suelos arcillosos y limosos, pero es poco tolerante a suelos salinos<sup>(37)</sup>; sin embargo, con el hecho de aplicar biofertilizantes se logró eliminar este efecto. Además en el suelo franco-arenoso no se encontraron carbonatos disponibles que afecten negativamente a la bacteria, además el porcentaje de arcilla y capacidad de retención de humedad, fueron relacionados positivamente con la viabilidad de la bacteria en suelo<sup>(26)</sup>. La mayor respuesta de emergencia con el *A. brasilense* puede estar asociada con un incremento en la longitud y en la ramificación de las raíces; sin embargo, no se conoce con precisión si el crecimiento es producido por las sustancias liberadas por el *A. brasilense*<sup>(6)</sup>, o por la fijación de nitrógeno<sup>(52)</sup>.

La mezcla y la micorriza tuvieron una respuesta superior al testigo en los suelos franco-arenoso y en el suelo areno-migajonoso. En el suelo migajón-arcillo-arenoso la micorriza y la mezcla no

Of the three biofertilizer treatments, only *A. brasilense* exhibited no differences between soil types ( $P < 0.05$ ). Good emergence was attained in the loamy-sand soil despite this species' preference for clayey or muddy soils and low tolerance for saline soils<sup>(37)</sup>. This effect, however, was canceled with application of the biofertilizer treatments. Other advantageous aspects of the loamy-sand soil is that no available carbonates (which negatively affect bacteria) were detected, and clay percentage and moisture retention capacity were positively related with bacteria viability in the soil<sup>(26)</sup>. The greater emergence response with *A. brasilense* may be associated to an increase in root length and ramification, though it is not known if this growth is produced by the substances released by *A. brasilense*<sup>(6)</sup> or by nitrogen fixation<sup>(52)</sup>.

The mycorrhiza and mixture treatments had a higher response than the control in the loamy-sand and granular-sandy soils. These same two treatments exhibited no differences with the control in the granular-clay-sand soil, despite this soil having higher phosphorous levels<sup>(49)</sup>, which significantly favors mycorrhiza performance<sup>(48)</sup>.

Biofertilizer inoculation favored seedling survival in all three soil types ( $P < 0.05$ ) versus the control (Table 3). Kleingrass had a higher survival index because it grows slowly and is characterized by a low development rate in its aerial portion, and rapid root development. These aspects provide it more opportunity to compete for water, space and nutrients, as well as reducing respiration as a result of its lower foliar area index<sup>(53)</sup>. Added to these, inoculation significantly increased this resistance<sup>(35,47)</sup>.

By stimulating root growth *A. brasilense* allows the absorption of more water and nutrients, that is, it increases plant growth, especially in initial growth stages<sup>(6,7)</sup>. Mycorrhiza inoculation, in contrast, increases root length and crown area, and improves photosynthetic activity and nutrient relationships in the plant, even under stress conditions<sup>(52)</sup>. This same study indicates that mycorrhiza can act as a buffer that diminishes the effects of extreme environmental conditions, allowing normal processes to occur that would be inhibited under stress conditions.

Cuadro 3. Porcentaje de emergencia y sobrevivencia en zacates introducidos en un periodo de sequía de 42 días con diferentes tratamientos de inoculación a la semilla y según el tipo de suelo (%)

Table 3. Emergence and survival percentage in introduced grasses over a 42-day drought period with different seed inoculation treatments, according to soil type (%)

Inoculation Treatment	Emergence				Survival			
	Loamy-sand	Granular sandy clay	Granular sand	Average	Loamy-sand	Granular sandy clay	Granular sand	Average
Klein								
Azospirillum	48 Aa	45 Aa	45 Aa	46	91	96	93	93.4 B
Mycorrhiza	55 Aa	23 Bb	32 Bb	36.7	88	96	95	92.9 B
Mixture	51 Aa	21 Bb	24 Bb	32	80	92	95	88.8 B
Control	34 Ba	16 Bb	8 Cb	19.3	71	84	60	71.6 A
Mean	47	26.3	27.3	33.5	82.4 a	92.2 a	85.5 a	86.7
Weeping lovegrass								
Azospirillum	47 Bb	57 Aab	64 Aa	56	54	76	78	69.3 B
Mycorrhiza	58 ABa	38 Bb	30 Bb	42	40	89	64	64.3 B
Mixture	67 Aa	35 Bb	34 Bb	45.3	49	67	85	70.3 B
Control	43 Ba	25 Cb	19 Cc	29	39	53	52	48.2 A
Mean	56	38.8	36.8	43.1	47.9 a	71.3 b	69.8 b	63
Wilman lovegrass								
Azospirillum	56	43	34	44.3 A	91	81	88	86.5 C
Mycorrhiza	42	30	29	33.7 B	68	62	57	62.3 AB
Mixture	41	23	35	33 B	69	69	90	76.3 B
Control	39	26	33	32.7 B	49	56	57	54.2 A
Mean	44.5 a	30.5 b	32.8 b	35.9	69.2 a	67.1 a	73.2 a	69.8

ABC Capital letters in the same column indicate differences among biofertilizers ( $P < 0.05$ ).

abc Lower case letters in the same row indicate differences among soil types ( $P < 0.05$ ).

mostraron diferencias con el testigo, a pesar de que este suelo contó con los mayores niveles de fósforo<sup>(49)</sup>, el cual favorece significativamente el desempeño de la micorriza<sup>(48)</sup>.

La inoculación con biofertilizantes favoreció la sobrevivencia de plántulas ( $P < 0.05$ ). en los tres tipos de suelo, con respecto al testigo (Cuadro 3). El zacate klein mostró un alto índice de sobrevivencia debido a que es un zacate de lento crecimiento, que se caracteriza por una baja tasa de desarrollo de su parte aérea, y un rápido desarrollo de su raíz, lo que le permite una mayor oportunidad de competir por agua, espacio y nutrientes, además de reducir su transpiración por su bajo índice de área foliar<sup>(53)</sup>; aunado a ello la inoculación incrementó significativamente esta resistencia<sup>(35,47)</sup>.

Mixture of the two microorganisms did not improve response as the mycorrhiza can effect development of other microorganisms<sup>(4)</sup>. In other words, an antagonistic affect can occur between the mycorrhiza and *A. brasilense*<sup>(54)</sup>, and thus the potential of both was not expressed in the present study when using the mixture treatment.

It is important to emphasize that though kleingrass prefers clayey and silty soils<sup>(37)</sup>, the biofertilizers acted synergically on survival. Thus, soil type had no effect and only the biofertilizers acted synergically, in contrast to the control<sup>(12,13,14)</sup>.

#### *Weeping lovegrass*

The loamy-sand soil had the highest emergence percentages for this grass species, except in the

En el caso del *A. brasilense*, al estimular el crecimiento de raíces, permite absorber más agua y nutrientes, es decir, incrementa el crecimiento de la planta especialmente en las primeras etapas de desarrollo<sup>(6,7)</sup>. Con respecto a las micorrizas, se determinó que la inoculación incrementa la longitud de la raíz y la área de la corona, y que aún bajo condiciones de estrés mejora la actividad fotosintética y las relaciones de nutrientes en la plantas<sup>(52)</sup>. El mismo autor explica que la micorriza puede actuar como un buffer que disminuye los efectos de las condiciones medioambientales extremas, permitiendo que se lleven a cabo los procesos normales que se inhibirían bajo condiciones de estrés. Cuando se utilizó la mezcla de ambos microorganismos, la respuesta no mejoró, debido a que la micorriza en algunos casos puede afectar el desarrollo de otros microorganismos<sup>(4)</sup>, es decir, se puede presentar un efecto antagónico entre micorriza y *A. brasilense*<sup>(54)</sup>, de ahí que en este estudio no se haya expresado ese potencial al utilizar la mezcla.

Es importante recalcar, que a pesar de que la especie prefiere los suelos arcillosos y limosos<sup>(37)</sup>, los biofertilizantes están actuando sinérgicamente sobre la sobrevivencia, por lo cual el tipo de suelo no tuvo ningún efecto y únicamente los biofertilizantes están actuando de manera sinérgica con respecto al testigo<sup>(12,13,14)</sup>.

#### Zacate llorón

En el suelo franco-arenoso se obtuvieron los porcentajes de emergencia más altos, excepto en el tratamiento con *A. Brasilense* (Cuadro 3). La mayor emergencia se presentó en la mezcla, con un 67 % y fue diferente ( $P < 0.05$ ) al *A. brasilense* y al testigo (47 y 43 %, respectivamente). Este efecto es contradictorio, ya que los suelos franco arenosos favorecen la viabilidad de esta bacteria debido a su bajo contenido de arcilla, materia orgánica, y a su capacidad de retención de humedad<sup>(26)</sup>; sin embargo este efecto negativo se puede explicar por el bajo contenido de nitrógeno, ya que es un suelo utilizado para agricultura, lo cual disminuyó los niveles de este nutriente, y probablemente haya sido la causa principal de una menor respuesta de la bacteria sobre las plántulas.

*A. Brasilense* treatment (Table 3). The highest emergence (67 %) was had with the biofertilizer mixture treatment, which was significantly different ( $P < 0.05$ ) from the *A. brasilense* (47 %) and control treatments (43 %). This effect is contradictory since the loamy-sand soil favored *A. brasilense* viability due to its low clay and organic matter contents and reduced moisture retention capacity<sup>(26)</sup>. This can be explained by the soil's low nitrogen content, a result of its previous agricultural use, which diminished levels of this nutrient and is likely the main cause of the lower bacteria response on the seedlings.

The mycorrhiza and mixture treatments produced high emergence in the loamy-sand soil, perhaps because *Glomus fasciculatum* responded well to the soil pH; this species develops best in pH between 5.5 to 6.5<sup>(56)</sup>. This same soil favored emergence in the control treatment due to its higher moisture retention capacity, which allows for high germination and emergence in grass species<sup>(25)</sup>.

Because of the benefits they provide, the biofertilizers increased emergence in all the soils<sup>(4,5,6)</sup>. The biofertilizer treatments in the granular-clay-sand and granular-sandy soils had higher emergence values ( $P < 0.05$ ) than the control. Treatment with *A. brasilense* had the highest percentages in both the granular-clay-sand (57 %) and granular-sandy (64 %) soils. Both the mycorrhiza and mixture treatments had high emergence in the loamy-sand soil, again, probably due to the favorable response of this fungus to soil pH between 5.5 and 6.5<sup>(56)</sup>. This same soil favored emergence in the control treatment due to its high moisture retention capacity, which allows for higher germination and emergence in graminea species<sup>(25)</sup>.

All three biofertilizer treatments produced a positive effect ( $P < 0.05$ ) on weeping lovegrass seedling survival versus the control, with the exception of the loamy-sand soil (Table 3). Indeed, they favored survival no matter the inoculation type<sup>(7,9,11)</sup>. Seedling survival was also high in courser soils. Though it emerges in almost all soil textures, this species is reported to establish better in sandy soils, and only persists in deep sandy soils<sup>(56)</sup>.

La micorriza y la mezcla lograron la mayor emergencia en el suelo franco-arenoso quizás debido a una favorable respuesta de la micorriza (*Glomus fasciculatum*), la cual se desarrolla mejor en un pH de 5.5 a 6.5<sup>(56)</sup>. El suelo franco-arenoso favoreció la emergencia en el testigo, debido a la mayor capacidad de retención de humedad del suelo, lo que permite una mayor germinación y emergencia de las especies de gramíneas<sup>(25)</sup>.

En los suelos migajón-arcillo-arenoso y areno-migajonoso los biofertilizantes presentaron valores mayores ( $P < 0.05$ ) al testigo. En ambos tipos de suelo el *A. brasilense* presentó los más altos porcentajes, 57 y 64 %, respectivamente. Los biofertilizantes incrementaron la emergencia por las ventajas que confiere la inoculación<sup>(4,5,6)</sup>. La micorriza y la mezcla lograron la mayor emergencia en el suelo franco-arenoso quizás debido a una favorable respuesta de la micorriza la cual se desarrolla mejor en un pH de 5.5 a 6.5<sup>(56)</sup>. El suelo franco-arenoso, favoreció la emergencia en el testigo, debido a la mayor capacidad de retención de humedad del suelo, lo que permite una mayor germinación y emergencia de las especies de gramíneas<sup>(25)</sup>.

Los biofertilizantes mostraron un efecto positivo ( $P < 0.05$ ) en la sobrevivencia de plántulas en relación al testigo a excepción del suelo franco-arenoso que no mostró efecto (Cuadro 3). Los biofertilizantes ayudaron a la sobrevivencia de las plántulas sin importar el tipo de inoculación<sup>(7,9,11)</sup>. La sobrevivencia de plántulas fue mayor en los suelos más gruesos. Para esta especie que se reporta se establece mejor en suelos arenosos, queda de manifiesto que emerge en casi todas las texturas de suelo, pero sólo persiste en suelos arenosos profundos<sup>(56)</sup>.

#### *Zacate garrapata*

El uso de *A. brasilense* favoreció la emergencia de plántulas sólo en los suelos franco-arenoso y migajón arcillo arenoso (56 y 43 %) ( $P < 0.05$ ). Los tratamientos que incluyeron la mezcla y el *A. brasilense* mostraron un mayor efecto ( $P < 0.05$ ) en la sobrevivencia de plántulas (86.5 y 76.3 %) vs micorriza (62.3 %) y el testigo con 54.2 %. Se

#### *Wilman lovegrass*

Use of *A. brasilense* favored seedling emergence in the loamy-sand (56 %) and granular-clay-sand (43 %) soils ( $P < 0.05$ ). Also, the *A. brasilense* and mixture treatments exhibited greater effect on plantlet survival ( $P < 0.05$ ) (86.5 and 76.3 %, respectively) than the mycorrhiza (62.3 %) and the control (54.2 %) treatments. Soil type had no effect on plantlet survival.

The *A. brasilense* response is likely associated with an increase in growth rate due to nitrogen fixation by this microorganism; this fluctuates between 5 and 18 % of the plant's total nitrogen intake<sup>(28,52)</sup>. The loamy-sand soil favors emergence because of its high moisture retention capacity<sup>(25)</sup>.

The success of the Wilman lovegrass is due to its slow initial development of the aerial portion<sup>(56)</sup> and its high root:aerial portion ratio<sup>(35,47)</sup>. This characteristic of low aerial portion biomass reduces its transpiration rate and nutritional requirements, meaning it needs less water consumption to survive.

Survival was equal for all the soil types indicating that there was high mortality of emerged seedling in the loamy-sand soil. This is because this grass adapts well to sandy-silt soils but only moderately well to clay soils<sup>(37)</sup>. When inoculated with *A. brasilense*, the plantlets in the other two soil types had low mortality<sup>(5,28)</sup>. The mycorrhiza treatment had no positive effect on emergence or survival in those species, probably because this grass may not be affected as mycorrhization can have only a temporary effect, or none at all<sup>(4)</sup>.

Though this study is preliminary because many of the interrelating aspects are as yet unknown, it clearly indicates that inoculation with *A. brasilense*, *G. fasciculatum*, or a mixture of both, favors grass emergence and survival in comparison to uninoculated soils. The most notable effect on emergence was observed when using just *A. brasilense*. Also, the magnitude of plant response to the biofertilizers was different among the six grass species.

In the central valleys of the state of Chihuahua, 60 % of the years can be expected to have moisture

observó que el tipo de suelo no tuvo ningún efecto sobre la sobrevivencia de plántulas.

Posiblemente la respuesta al *A. brasilense* esté asociada con un incremento en la tasa de crecimiento, debido a la fijación de nitrógeno que realiza este microorganismo, el cual fluctúa entre un 5 y un 18 % del total del nitrógeno incrementado por la planta<sup>(28,52)</sup>. El suelo franco-arenoso favoreció la emergencia, debido a la mayor capacidad de retención de humedad del suelo<sup>(25)</sup>.

El éxito del zacate garrapata se debió a que presenta una tasa de desarrollo inicial de su parte aérea lenta<sup>(56)</sup>, y su proporción raíz:parte aérea es alta<sup>(35,47)</sup>. Esta característica de baja biomasa aérea lo hace reducir su tasa de transpiración y sus requerimientos nutricionales, con lo cual requiere de un menor consumo de agua para lograr su supervivencia.

La sobrevivencia fue igual para todo tipo de suelo, lo que nos dice que hubo una mayor mortalidad de plántulas emergidas del suelo franco-arenoso y esto se debe a que la especie se adapta bien a suelos areno-limosos y regular a suelos arcillosos<sup>(37)</sup>; en los otros dos tipos de suelo, las plántulas tuvieron baja mortalidad cuando contaron con inóculo de *A. brasilense*<sup>(5,28)</sup>. Por su parte la micorriza no mostró un efecto positivo en la emergencia ni en la sobrevivencia, probablemente a que esta especie puede no ser afín, ya que la micorrización puede ser temporal o no efectiva<sup>(4)</sup>.

A pesar de que es un estudio de tipo preliminar, en el que aún se desconocen muchos aspectos que están interrelacionados, se determinó que hay una fuerte evidencia de que los inóculos de *A. brasilense*, micorriza y la mezcla de éstos, favorecieron la emergencia y la sobrevivencia de gramíneas en comparación con el suelo no inoculado; sin embargo, el efecto más notorio para la emergencia se apreció utilizando únicamente el *A. brasilense*, siendo la magnitud de la respuesta a los biofertilizantes, diferente entre las especies.

En las condiciones de los valles centrales del estado de Chihuahua, se espera que en el 60 % de los años se presentarán condiciones de humedad superiores a las evaluadas en el estudio, de ahí que

conditions higher than those evaluated in this study. Thus, the results represent basic information for planning restoration programs using biofertilizers. To support the present results further basic research is needed that evaluates the degree of survival and adaptation of the microorganisms to the soil and their interactions with macro- and micronutrients, soil temperature and humidity. Also, studies are needed indicating the productive response of plants submitted to these treatments, including studies of growth, nitrogen fixation, forage production and nutritional quality, as well as posterior field research.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the Sistema de Investigación Regional de CONACYT Francisco Villa (SIVILLA) for its financial support.

*End of english version*

---

los resultados representarán una base importante para planear programas de resiembras utilizando biofertilizantes. Además, para apoyar los resultados obtenidos, es necesario realizar investigación básica que permita evaluar el grado de sobrevivencia y adaptación de los microorganismos en el suelo y sus interacciones con macro y micronutrientes, así como con la temperatura y humedad del suelo, además de precisar la respuesta productiva de las plantas sometidas a estos tratamientos, en donde se incluyan estudios de crecimiento, fijación de nitrógeno, producción de forraje y calidad nutricional y posteriormente llevarlos a nivel de campo.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Sistema de Investigación Regional de CONACYT Francisco Villa (SIVILLA) por el apoyo financiero recibido.

## LITERATURA CITADA

1. Archer S, Pike D. Plant animal interactions affecting plant establishment and persistence on revegetated rangeland. *J Range Manage* 1991;44:558-565.
2. King MA, Waller S, Moser L, Stubbendieck JL. Seed effects on grass establishment on abandoned Nebraska Sandhills cropland. *J Range Manage* 1989;42(3):183-186.
3. Tadmor NH, Cohen Y. Root elongation in the preemergence stage of Mediterranean grasses and legumes. *Crop Sci* 1968;8:416-419.
4. Sylvia D. Mycorrhizal symbioses. En: Sylvia D, Fuhrmann J, Hartel PG, Zuberer D editores. Principles and applications of soil microbiology. Upper Saddle River, NJ, USA: Prentice Hall Inc.; 1999:408-425.
5. Michiels K, Vanderleyden J, Gool AV. *Azospirillum* - plant root associations: A review. *Biol Fertil Soils* 1989;8:356-368.
6. Okon Y, Labandera C. Agronomic applications of *Azospirillum*: An evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biol Biochem* 1994;26:1591-1601.
7. Burdman S, Okon Y, Jurkevitch E. Surface characteristics of *Azospirillum brasilense* in relation to cell aggregation and attachment to plant roots. *Critical Rev Microb* 2000; 26(2):91-110.
8. Zaady E, Okon Y, Perevolotsky A. Growth response of Mediterranean herbaceous swards to inoculation with *Azospirillum brasilense*. *J Range Manage* 1994;47:12-15.
9. McLaughlin M. Biofertilizers. Saskatoon, Saskatchewan Westcross House Pub.; 2000.
10. Rice CW, Todd T, Blair J, Seastedt TR, Ramundo RA, Wilson GW. Belowground biology and processes. In: Knapp AK, Briggs J, Hartnett D, Collins C editores. *Grassland Dynamics*. New York, New York, USA: Oxford University Press Inc.; 1998:244-265.
11. Kennedy AC. The rhizosphere and spermosphere. In: Sylvia D, Fuhrmann J, Hartel PG, Zuberer D editores. Principles and applications of soil microbiology. Upper Saddle River, NJ, USA: Prentice Hall Inc.; 1999:389-407.
12. Call CA, Mckell CM. Endomycorrhizae Enhance growth of shrub species in processed oil Shale and disturbed native soil. *J Range Manage* 1985;38(3):258-261.
13. Cerligione LJ, Liberta AE, Anderson RC. Effects of soil moisture and soil sterilization on vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization and growth of little bluestem (*Schizachyrium scoparium*). *Can J Bot* 1988;66:757-761.
14. Harrison MJ. Biotrophic interfaces and nutrient transport in plant/fungal symbioses. *J Exp Bot* 1999;50:1013-1022.
15. Behl RK, Sharma H, Kumar V, Singh KP. Effect of dual inoculation of VA mycorrhiza and *Azotobacter chroococcum* on above flag leaf characters in wheat. *Agronomy & Soil Sci* 2003;49(1):25-31.
16. Wright SF y Upadhyaya A. Survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 1998;(198): 97-107
17. Hetrick BA, Kitts AD, Wilson G. Mycorrhizal dependence and growth habitat of warm-season and cool season tallgrass prairie plants. *Can J Bot* 1988;66:1376-1380.
18. Graham PH. Biological dinitrogen fixation: Symbiotic. In: Sylvia D, Fuhrmann J, Hartel PG, Zuberer D editores. Principles and applications of soil microbiology. Upper Saddle River, NJ, USA: Prentice Hall, Inc.; 1999:322-345.
19. SAS. SAS User's guide for linear models. Cary, NC, USA: SAS Inst. Inc. 1995.
20. Steel R, Torrie JH. Principles and procedures of Statistics. A Biometrical approach. New York, USA: Mc Graw-Hill Book Co.; 1980.
21. Nason DA, Cuany RL, Wilson AM. Recurrent selection in blue grama. I. Seedling water uptake and shoot weight. *Crop Sci* 1987;27(5):847-851.
22. Wilson AM, Briske DD. Seminal and adventitious root growth of blue grama seedlings on the Central Plains. *J Range Manage* 1979;27(6):209-213.
23. Ball DA, Miller SD. A comparison of techniques for estimation of arable soil seed banks and their relationships to weed flora. *Weed Res* 1989;29:365-373.
24. Hartley MJ, Rahman A. Optimising conditions for weed seed emergence from soil trays in a glasshouse. The New Zealand Plant Protection Society Incorporated. [on line] [www.hortnet.co.nz/publications/nzpps/proceedings/95/95181.htm](http://www.hortnet.co.nz/publications/nzpps/proceedings/95/95181.htm). 6p1995. Accessed Mar 19, 2004.
25. Smith SE, Riley E, Tiss JL, Fendenheim DM. Geographical variation in predictive seedling emergence in a perennial desert grass. *J Ecology* 2000;88(1):133-139.
26. Bashan Y, Puente ME, Rodríguez Mendoza MM, Toldo G, Holguín H, Ferrera Cerrato R, Pedrin S. Survival of *Azospirillum brasilense* in the bulk soil and rhizosphere of 23 soil types. *Appl Environ Microbiol* 1995;61(5):1938-1945.
27. Kapulnik Y, Okon Y. Benefits of *Azospirillum* inoculation on wheat: effects on root development, mineral uptake, nitrogen fixation and crop yield. In: Klingmüller N editor. *Azospirillum: Genetics, Physiology and ecology*. *Experientia Supplementum* 1983;48:163-169.
28. Bashan Y, Holguín G. *Azospirillum* relationships: environmental and physiological advances (1990-1996). *J Microbiol* 1997;43:103-121.
29. Avila RMG, Monroy AA. Establecimiento del zacate navajita (*Bouteloua gracilis*) en asociación con hongos micorrizigenos arbusculares bajo condiciones de sequía en un invernadero. XV Congreso mexicano de botánica. Querétaro, Qro. 2001.
30. Valencia MG, Melgoza A. Comportamiento del zacate navajita (*Bouteloua gracilis*) bajo micorrización. *Pastizales. INIFAP-SARH. Campo Exp. La Campana*. 1989;18(2):25-34.
31. Allen MF, Moore T, Christensen M. Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. II Altered levels of gibberellin-like substances and abscisic acid in the host plant. *Can J Bot* 1982;60:468-471.
32. Allen MF, Sexton JC, Moore T, Christensen M. Influence of phosphate source on vesicular-arbuscular mycorrhizae of *Bouteloua gracilis*. *New Phytol* 1981;87:687-694.
33. Minnick TJ, Peters DC. Soil texture and precipitation effects on *Bouteloua gracilis* (Poaceae) seedling emergence and growth. Agricultural Research Service. TEKTRAN. [on line] [www.nal.usda.gov/tic/tektran/data/000010/47/0000104787html](http://www.nal.usda.gov/tic/tektran/data/000010/47/0000104787html). 1999. Accessed Feb 19, 2004.
34. Miller RM. The survival dynamics of beneficial microbes. *American J Botany*. Botanical Society of America. Symposium: Mycorrhizal fungi and ecological theory. 1986;73(5):254.
35. Morales C, Melgoza A, Esqueda MH. Patrones de crecimiento de cinco zacates forrajeros importantes en resiembras de pastizales [resumen]. Reunión de Manejo de Pastizales. SOMMAP. 1988;1(1):3-6.
36. Frasier GW, Cox JR, Woolhiser DA. Emergence and survival

GRAMÍNEAS INOCULADAS CON BIOFERTILIZANTES EN INVERNADERO

- response of seven grasses for six wet-dry sequences. *J Range Manage* 1985;38(4):372-377.
37. Welch TG, Y Haferkamp MR. Seeding Rangeland. The Texas A&M University System. Texas Agricultural Extension Service B-1379. S/F:1-10.
  38. Hetrick BA, Wilson GT, Todd T. Differential responses of C3 and C4 grasses to mycorrhizal symbiosis, phosphorus fertilization, and soil microorganisms. *Can J Bot* 1990;68:461-467.
  39. Hetrick BA, Wilson GW, Leslie JF. Root architecture of warm and cool season grasses: relationship to mycorrhizal dependence. *Can J Bot* 1991;69:112-118.
  40. Hetrick BA, Kitt GD, Wilson GT. Mycorrhizal dependence and growth habit of warm-season and cool-season tallgrass prairie plants. *Can J Bot* 1988;66:1376-1380.
  41. Hetrick BA, Wilson GT, Hartnett DC. Relationship between mycorrhizal dependence and competitive ability of two tallgrass prairie grasses. *Can J Bot* 1989;67:2608-2617.
  42. Allen MF, Moore TF, Christensen C. Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae: cytokinin increases in the host plant. *Can J Bot* 1980;58:371-374.
  43. Coyne PI y Bradford JA. Morphology and Growth in Seedlings of Several C4, perennial grasses. *J Range Manage* 1985;38(6):504-512.
  44. Ruiz NJ. Patrones de crecimiento de los zacates gigante y klein. [tesis licenciatura]. Chihuahua, Chih: Universidad Autónoma de Chihuahua; 2001.
  45. Morales-Nieto CR. Características de los principales zacates forrajeros para zonas áridas. Folleto Técnico No. 2. Campo Experimental La Campana, INIFAP, Chihuahua, Chih. 1994.
  46. Polk DB, Cifres CJ, Mutz JL. Establishment, production, and protein content of four grasses in south Texas. *J Range Manage* 1976;29(3):240-243.
  47. Robles SJ. Patrones de crecimiento de los zacates gigante y klein. [tesis licenciatura]. Chihuahua, Chih. México: Universidad Autónoma de Chihuahua; 2001.
  48. Jacobson KM. Moisture and substrate stability determine VA-Mycorrhizal fungal community distribution and structure in an arid grassland. *J Arid Environ* 1997;35:59-75.
  49. Curtis E. Swift, Mycorrhiza and soil phosphorus level. Area Extension Agent (Horticulture) Colorado State University Cooperative. Tri River Area. [on line] <http://www.coopest.colostate.edu/TRA/Plants/mycorrhiza.htm/>. Accessed Feb 20, 2004.
  50. Elberse WT, Breman H. Germination and establishment of Sahelian rangeland species. II. Effects of water availability. *Oecología* 1990;85:32-40.
  51. Sprangletop, Green (*Leptochloa dubia*). [on line] <http://www.dkseeds.com.sprangletop.htm>. Accessed Mar 2, 2004.
  52. Bashan Y. *Azospirillum* plant growth-promoting strains are nonpathogenic on tomato, pepper, cotton and wheat. *Can J Microbiol* 1998;44:168-174.
  53. Haselwandter K. Soil-microorganisms, mycorrhiza, and restoration ecology. In: Urbanska K, Webb N, Edwards P editors. *Restoration Ecology and Sustainable Development*. Cambridge, Univ. Press.; 1997:145-168.
  54. Tsimilli-Michael M, Eggenberg P, Biro B, Köves-Pechy K, Vörös I, Strasser R.J. Synergistic and antagonistic effects of arbuscular mycorrhizal fungi and *Azospirillum* and *Rhizobium* nitrogen-fixers on the photosynthetic activity of alfalfa, probed by the polyphasic chlorophyll *a* fluorescence transient O-J-I-P. *Applied Soil Ecology* 2000;15:169-182.
  55. Sarma YR. Biological control for Phytophthora foot root rot of black pepper, *Piper nigrum*, in India. [on line] <http://www.bspp.org.uk/icpp98/5.2/5S.html>. Accessed Mar 4, 2004.
  56. Cox JR, Martín M, Ibarra F, Fourie J, Rethman N, Wilcox D. The influence of climate and soils on the distribution of four African grasses. *J Range Manage* 1988;41(2):127-138.

